

## **RAPPORT DE MISSION DU 7 AU 12 JUIN 1998**

### **2<sup>nd</sup> International Workshop on *Bemisia* and geminiviruses**

*San Juan, Puerto Rico*

June 7-12, 1998

Nathalie BOISSOT  
Marie-line CARUANA  
Claudie PAVIS  
Nicolas SAUVION  
Cica URBINO

INRA URPV  
CIRAD-FLHOR  
INRA URPV  
INRA URPV  
INRA URPV

Le niveau scientifique du congrès était très élevé et les posters étaient aussi cotés que les communications. De nouvelles données et points forts sont ressortis quelque soit les disciplines. Le phénomène de recombinaison entre geminivirus de même espèce a été clairement établi.

La taxonomie des geminivirus est de ce fait en pleine évolution. On assiste actuellement à une explosion de nouvelles maladies à geminivirus dans le nouveau monde. Elle pourrait s'expliquer par des recombinaisons entre geminivirus permettant leur évolution rapide, ainsi que par l'arrivée récente des populations d'aleurodes dans la zone.

On dispose actuellement d'une bonne connaissance des rôles des protéines exprimées par les gènes viraux, des interactions entre protéines virales et de leurs actions sur la réplication et le mouvement du virus. Les promoteurs des gènes viraux ont aussi été étudiés. Ces études ont permis le développement de stratégies de transformation de plantes pour la résistance aux geminivirus. Le résultat le plus marquant met en avant le rôle des transcripts plutôt que des produits.

Du point de vue entomologique, ce congrès n'a pas permis de lever l'ambiguïté sur le statut de biotype B ou d'espèce. Cependant un effort de caractérisation important se développe (utilisation des RAPD-PCR, amplification et séquençage du 16S ribosomal et du cytochrome II oxydase) avec la mise en place d'un réseau intégré dans un projet IPM du CGIAR. La transmission du TYLCV dans la descendance des deux générations est une nouvelle donnée épidémiologique. Il a été aussi montré que les insectes pouvaient acquérir le virus par copulation.

Concernant les travaux sur la résistance des plantes, les derniers travaux des équipes israéliennes pour la résistance au TYLCV les positionne nettement comme leader en la matière.

## Bemisia

---

### • Statut de *Bemisia* sp. dans le monde

L'historique de l'extension des mouches blanches aux Etats-Unis, en Europe puis dans le reste du monde est aujourd'hui bien connu. La situation pour les pays suivant est résumée : Porto Rico, L-1 et L-20 ; République Dominicaine, L-5 ; USA, L-6 ; Espagne, L-18 ; P-2bis; Iles Canaries, P-7 ; Jamaïque, L-19 ; Amérique du Sud, L-70 ; Brésil, P-29, P-30 ; Turkménistan, P-16 ; Martinique, P-24 ; Guadeloupe, P-71.

Une controverse persiste cependant sur le statut exact des mouches blanches incriminées dans les pullulations soudaines des années 80-90. La communauté scientifique admet quasi à l'unanimité l'apparition d'une nouvelle espèce, *Bemisia argentifolii*. Mais ce concept a été fortement remis en cause dans la littérature et pendant le Workshop. En particulier, F. Byrne (Univ. Riversides, USA, L-16) est un fervent défenseur du biotype B de *Bemisia tabaci* et non d'une nouvelle espèce. Son argumentation repose essentiellement sur le fait que la technique d'électrophorèse a permis de caractériser plusieurs biotypes très distincts de *Bemisia tabaci* (non seulement le biotype B mais aussi des biotypes de Pakistan, d'Espagne, d'Afrique, d'Asie et d'Australie) et que des hybridations entre certains de ces biotypes, en conditions naturelles ou en laboratoire, ont été clairement démontrés.

Des techniques de biologie moléculaire (RAPD-PCR - voir L-18, P-2bis, P-7, P-29, P-30 - utilisation de marqueurs tels que des séquences du gène de la cytochrome oxydase II -P1- ou le 16S rDNA mitochondrial - P16 - ou la sous-unité 16S rRNA mitochondriale -P-2), ont conduit à la caractérisation d'autres biotypes. Ces techniques ont permis d'identifier des biotypes très distincts mais se côtoyant parfois dans une même région : l'exemple typique est celui des biotypes B et Q présents dans la région de Cadix (Sud Espagne) dans une proportion 50:50. Des hybrides B/Q ont même été identifiés (P-2bis). Cet exemple parmi d'autres remet là encore en cause la notion d'apparition de nouvelle espèce. Qui plus est, il contredit une autre idée communément admise selon laquelle partout où le biotype B était apparu dans une région, il aurait rapidement supplanté le ou les autres biotypes endémiques.

En admettant que l'on accepte la notion d'espèce nouvelle pour le biotype B, il faudrait aussi l'accepter, sur les mêmes critères, pour les autres biotypes. Ce qui, paradoxalement n'est pas admis pour l'instant par la communauté scientifique. Nous aurions pu nous attendre à ce que la discussion sur le thème "la taxonomie des aleurodes" puisse trancher la question. Or, les « découvreurs » de *Bemisia argentifolii*, Perring et Bellows n'étaient pas présents à ce Workshop et seuls leurs détracteurs (Byrne, Markham) ont pu avancer leurs arguments. En suivant les discussions, il apparaît qu'un travail de génétique des populations serait nécessaire pour y voir plus clair mais aucune équipe n'a évoqué ce besoin.

La question reste donc posée de savoir s'il faut parler, en particulier dans les publications, de *Bemisia tabaci* biotype B ou de *Bemisia argentifolii*. En attendant une réponse, nous laisserons le mot de la fin à F. Byrne qui, reprenant une citation, conclut : « le biotype est un concept de taxonomie utilisé par des non taxonomistes ».

Les informations apportées par les différentes communications orales ou les posters sont résumées sur le tableau.

### • Dynamique des populations

Peu d'études en tant que telles, les dynamiques présentées étaient plutôt à mettre en relation avec les dynamiques des parasitoïdes, ou avec les phénomènes de résistance aux insecticides.

A Porto Rico (P-3), la dynamique a été suivie sur culture de tomate (une année), le pic se situe en mai, avant les pluies, mais les relevés ne se poursuivent pas après la récolte. Au Mexique, dans le Yucatan (P-38), le pic est aussi en mai, et les populations chutent au début des fortes pluies.

Un travail de modélisation a été présenté par J. Holt du NRI (L-35). Il s'agit d'un modèle sur l'épidémiologie des maladies virales causées par des aleurodes (CMD et TLCV). Les paramètres retenus sont la durée de la culture, le temps moyen nécessaire à l'infection par le vecteur, la période de latence dans la culture, le temps moyen d'acquisition par le vecteur, la durée de séjour du vecteur dans la culture, le pouvoir infectieux du vecteur qui s'établit et la quantité de vecteurs qui passent sur la culture. Les paramètres "optionnels" seraient la présence de filets sur les pépinières, de plantes résistantes, de variétés à cycle court, de traitements insecticides, d'auxiliaires, de mycopesticides, de jeunes plants isolés, de cendres sur la culture, d'écrans jaunes et de plantes-pièges en bordure. Ces modèles sont en cours d'évaluation.

Pour l'échantillonnage, un nouveau type de piège sans glu a été présenté (P-13). Il est peu coûteux, est plus facile à manipuler du fait de l'absence de glu et est sans effet sur les auxiliaires.

Concernant la sex-ratio, Castle l'a suivie en Californie, Imperial Valley sur le biotype B (L-24). Tôt en saison sur le melon (printemps), la proportion de femelles est de 0.8 à 0.9; lorsque les populations augmentent, cette proportion diminue progressivement jusqu'à 0.6 à la fin de la saison du melon; ce niveau se maintient jusqu'à la fin de l'été pendant la saison du coton. Il indique également que des copulations répétées sont nécessaires pour la fertilisation des oeufs, et que les capacités de reproduction semblent supérieures à celles indiquées dans la littérature.

- **Interactions insectes-milieu**

Présentation intéressante de M. Inbar (L-22) sur l'effet du stress des plantes (déficit en eau et/ou en fertilisation, déchirures des feuilles) sur les performances des herbivores (chenilles, mineuses, aleurodes). Il apparaît que les performances sont optimales avec un peu de stress, puis elles diminuent rapidement lorsque le nombre et l'intensité des stress augmentent. Les réponses sont similaires pour tous les types de stress et d'insectes, sauf dans un cas : le stress lié aux déchirures des feuilles n'influence pas les performances des aleurodes. Il explique ceci (L-50) par le fait que lors des piqûres, le stylet contourne les cellules et n'induit pas de réactions de défense de la plante, type phénols, peroxydases, PR protéines ou autres.

- **Auxiliaires**

En préalable, on peut citer la présentation de Gerling (L-3) qui relativise l'intérêt des auxiliaires pour la lutte contre les aleurodes. Lorsque les niveaux de populations d'aleurodes sont "raisonnables", les auxiliaires peuvent permettre d'éviter les pullulations. Au-delà de ce seuil, ils sont insuffisants. En extrapolant le raisonnement à la situation en Guadeloupe, les conditions seraient plutôt favorables. En effet, les pullulations y sont moins fortes que dans les autres régions plus sèches du monde où les populations ne sont pas limitées par les précipitations. En Europe du Nord et sous serre, l'utilisation de parasitoïdes n'est rentable que pour les cultures à forte valeur ajoutée (L-78).

La notion de compétition (ou même d'hyper-parasitisme) entre espèces d'auxiliaires peut avoir son importance lors d'introduction d'espèces exotiques, destinées à renforcer le potentiel du contrôle biologique. Bogran *et al.* (L-75) ont expérimenté ces interactions sur le terrain, il apparaît que pour les espèces étudiées, l'impact défavorable d'une telle compétition est mineur.

Un poster (P-7) fait état d'une identification de parasites par PCR

Les inventaires régionaux

Plusieurs posters faisaient état d'inventaires de parasitoïdes. Le plus souvent, les déterminations s'arrêtent au genre. On peut citer un travail assez complet en République Dominicaine (Serra, P-3).

Les programmes de prospection et d'introductions

C'est le fief de l'USDA-APHIS-PPQ. Une présentation générale de ces prospections au niveau mondial a été faite (L-73). Elles ont été réalisées en Afrique, Amérique latine, Bassin Méditerranéen, Inde et Asie du Sud-Est (100 isolats de *Paecilomyces fumosoroseus*, 24 espèces d'*Encarsia*, 16 espèces d'*Eretmocerus* et 1 nouvelle espèce d'*Amitus*). Ces auxiliaires sont évalués au laboratoire et au champ, pour connaître leur capacités en termes d'adaptation au climat et de résistance aux insecticides. A Porto Rico (P-9), des espèces exotiques ont ainsi été introduites sur différentes cultures (*Eretmocerus mundus*, *E. sp.*, *Encarsia formosa*, *En. transvena*). Au moins une espèce s'est établie (*Eretmocerus*).

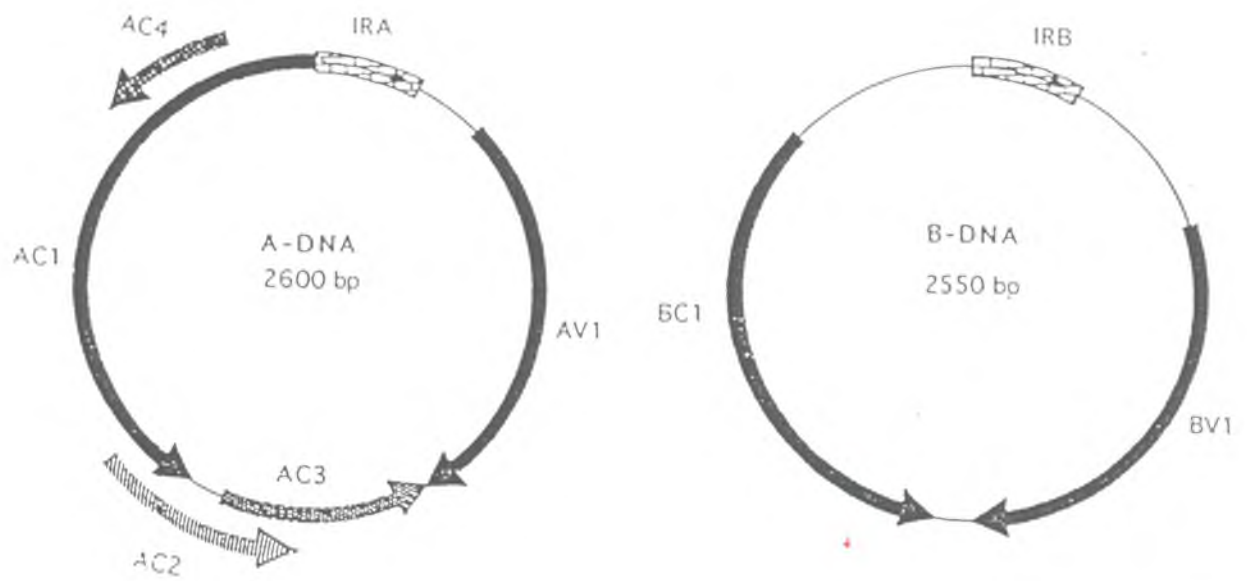
- **Lutte chimique**

La lutte chimique et son adéquation avec la lutte biologique a fait l'objet d'une session d'une matinée. Le problème de l'apparition de résistance aux insecticides a été soulevé, en particulier pour les régions suivantes : région des Andes Sud Américaines : L-70, USA : L-72, revue : L-71.

De nouvelles générations d'insecticides apparaissent (inhibiteurs de la synthèse de chitine, régulateurs de croissance, mimétique de l'hormone juvénile, produits d'origine naturelle (abamectine, etc.) P-4, - revue complète L-71). Certains de ces insecticides sont déjà utilisés dans le cadre d'une lutte intégrée (P21, P27). Des solutions sont apportées pour gérer ces problèmes d'apparition de résistance (L-76, L-77, L-80). Un groupe de discussion s'est réuni sur ce thème mais il apparaît que chaque situation constitue un cas particulier nécessitant d'intégrer de nombreux paramètres pour qu'une lutte raisonnée ou intégrée puisse s'avérer efficace.

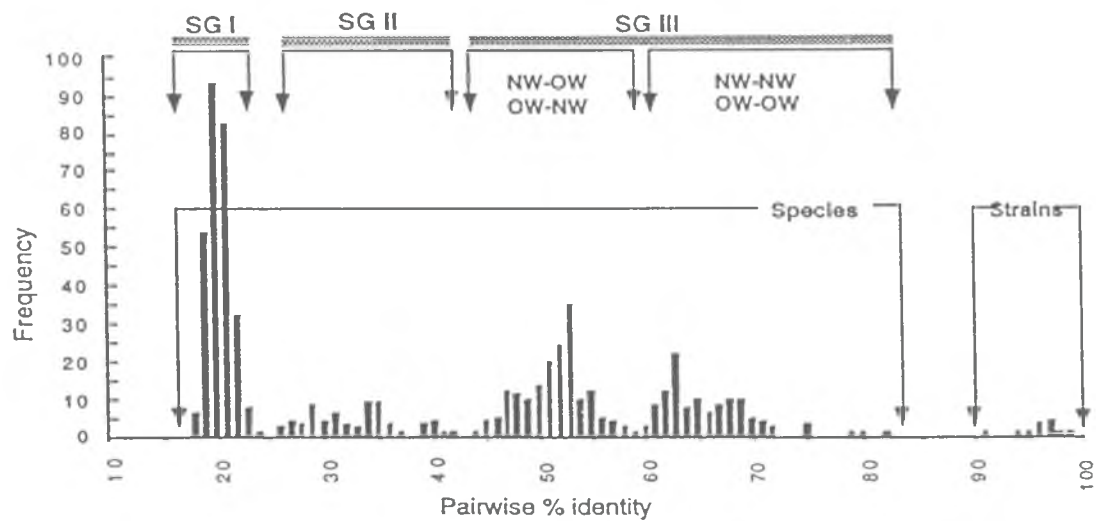
Résumé des informations apportées par les posters et communications sur le statu de *Bemisia* sp.

Pays	Nbr	A	B	BIOTYPES						Ref.
				Jatropha	Ouganda	Bénin	Q (Spanish)	S (Ipomoea indica)	non B	
Imperial valley	1	1981	1991							L6
Arizona	1		X							L6
Texas	1		X							L6
Floride	1		1986							L6
Mexique										L6
Porto Rico	2	Sida race	X	disparu						L1, L20
Rep. Dominicaine	3	X	X	X						L1
Jamaïque	2	X	X							L 19
Guadeloupe	73	?	X	?						P71
Martinique	73	?	X	?						P24
Brésil	2	1 pop	X							P29,P30
Israël	1	1976- 77	X							L3
Pakistan	1									L16
Asie	>2									L16
Australie	3		X						X	L16
Espagne	2		X hybride B/Q				X	rare		P1, P2, L18
Portugal	2		X				X			P1, P2, L18
Iles Canaries	2		X				1 pop			P7
Afrique	>2				X	X				L16
Réunion			?							P57



## BIPARTITE GEMINIVIRUSES

Frequency Distribution of Nucleic Acid Sequence of A component of Geminiviruses





- **Méthodes culturales et physiques**

Plusieurs communications orales montrent l'efficacité de l'utilisation de toiles insect-proof recouvrant la culture tant pour se protéger des risques de contaminations virales (L-94, L-97, L-98) que pour lutter directement contre les aleurodes (L-95, L-96). Une communication intéressante montre l'effet de l'irrigation par aspersion sur les populations d'aleurodes (L-99). D'autres méthodes culturales originales, en champ ou en serre, sont présentées (L-100, L-101). Une méthode originale a été testée en Israël sur melon (P-13), il s'agit de souffler puis d'aspirer les adultes, à l'aide d'un engin de type tracteur. Dans ce pays, cette méthode de lutte apparaît comme rentable. De plus, l'incidence des maladies virales est moindre avec ce type de lutte.

## Geminivirus

---

- **Taxonomie de geminivirus**

Les geminivirus sont désormais classés dans la famille des geminiviridae et les anciens sous groupes I, II et III sont maintenant désignés respectivement par les genres mastrevirus (du nom du Maize streak virus), curtovirus (beet curly top virus) et begomovirus (bean golden mosaic virus). La classification d'un virus (genre, espèce, souche) est établie à partir des pourcentages d'homologie existant sur le composant A avec d'autre virus de la même famille (voir figure ci joint).

On a observés que les recombinaisons sont peu fréquentes chez les mastrevirus et les curtovirus. Elles sont plus fréquentes chez les begomovirus, et concernent principalement la région N-terminale de l'ORF de la protéine de capsid (CP) et la région intergénique. Elles peuvent intervenir sur des séquences de 50 à 1000 paires de bases (500 bases dans la CP pour les recombinaisons entre le ACMV et l'EACMV ; 958 bases entre le PYMV-TT et le ToLCV, 82 bases entre l'AYNV et le PYMV-TT, et 1625 bases entre le PYMV-TT et le PYMV-Ve). Le PYMV-TT est différent de la souche de référence du Venezuela principalement au niveau de la région intergénique (61% d'homologie) mais des recombinaisons existent aussi au niveau des ORF AC1 et AC4 ; ce qui n'est pas le cas des souches présentes en Guadeloupe, Martinique et Porto-Rico. Parmi les begomovirus, les exemples de recombinaison étudiés sont les suivants : le cotton leaf curl virus (CLCV) au Pakistan (L-87), l'ACMV et EACMV en Ouganda (L-4, P-60) le PYMV à Trinidad (P-70). Après 3 à 5 passages d'un isolat de virus (constitué du composant A du ToMoV et du composant B du BDMV) sur un hôte, des recombinaisons entre les régions intergéniques de ces virus ont été observées (L-89). Il apparaît cependant que les souches asiatiques présentent le plus fort taux de recombinaison (P-56).

Dans la Caraïbe, de nombreuses plantes adventices ou cultivées sont trouvées infectées par des nouveaux geminivirus. Cette explosion pourrait être due à des recombinaisons entre geminivirus présents en infection mixte dans les plantes hôtes.

En conséquence, la caractérisation des nouveaux geminivirus devra passer par un séquençage du génome entier ; L'ILTAB (Californie) travaille sur la taxonomie moléculaire des geminivirus, la mise au point d'outils de différenciation (outils moléculaires et logiciels statistiques) permettant d'intégrer ces recombinaisons dans la classification des nouveaux virus.

Il faut noter l'émergence de maladie à Closterovirus (L-88) transmis eux aussi par les aleurodes (*Bemisia* et *Trialeurodes*). Il sont probablement souvent confondus avec des geminivirus. Ceci est en accord avec une remarque de Morales qui précisent que dans la Caraïbe et l'Amérique Centrale de nombreux échantillons supposés être infectés par un geminivirus (parce que transmis par *Bemisia*) ne le sont pas.

- **Répartition de nouveaux begomovirus**

- **Dans l'Ancien Monde**

Au Soudan, le watermelon chlorotic stunt virus (WCSV) a été identifié sur pastèque (P-12, P-37). En Afrique de l'Est, le TYLCV, l'OLCV et le WCSV affectent la production des différentes cultures maraîchères et vivrières (P-26). Au Liban, le TYLCV (sur tomate) est proche des souches Israël et Egypte ; *Mercurialis annua* serait un hôte potentiel (P-32).

En Espagne, Le TYLCV Sar était présent depuis 1992 sur tomate et depuis 1997, la souche Israël est apparue, et infecte le haricot (P-44, P-52).

Le TYLCV Israël est présent à la Réunion sur tomate (P-57).

Le TLCV et le MbyMV affectent gravement les cultures de tomate, de niébé (Vigna) et soja en [Asie](#) (Inde, Chine, Japon, Taiwan, Philippines, Thaïlande, Bangladesh, et Sri Lanka (P-55). Le Cotton Leaf Curl Virus a été caractérisé au [Pakistan](#) (P-35).

- **Dans le Nouveau Monde**

[Aux Etats Unis](#), la patate douce est infectée par le Sweet potato feathery mottle virus (SpFMV) et le TYLCV-Is est présent en Floride

[Au Brésil](#), en plus du TGMV, 6 différents nouveaux geminivirus ont été partiellement identifiés sur tomate (P-34, 46 et 63) ; 3 geminivirus ont été identifiés sur Sida dont un monopartite (L-93). [Au Mexique](#), présence du PHV et du TPV (P-49). [Au Costa Rica](#), 2 geminivirus bipartites sur tomate appelés TYMV-CR1 et 2 (P-45) sont en cours de caractérisation. Outre le BGMV-PR ou TYLCV-CR sur haricot (P-62), on a trouvé de nouveaux geminivirus sur papaye, poivron, pastèque. [Au Guatemala](#) 3 geminivirus affectent la tomate : ToSLCV et ToMoV en mélange, et PepGMV (=TPV) (P-47). [Au Honduras](#), TSLCV sur tomate toujours en mélange avec ToMoV-HN1, ToMoV-HN1 et ToMoV-HN2 proches de l'AbMV, BGMV sur haricot et SiGMV-HN1 et 2 sur Sida proche du SiGMV de Floride (P-54). Le PYMV serait présent au Panama (comm. personnelle de Fauquet).

[A Cuba](#), en plus du TYLCV, le taino tomato mottle (TTMoV) virus a été identifié sur tomate ; il est aussi détecté sur pomme de terre en champ. [A la Jamaïque](#) (P-64) de nombreuses plantes adventices sont infectées par des geminivirus. Les virus de la papaye (PaMV) et de Wissadulina (WGMV) sont proches ; ceux du Sida (SiGMV-Jm et de macroptilium (MaGMV-Jm1) sont proches du PYMV ; MaGMV-Jm2 est proche du virus affectant la même plante en Amérique centrale. La tomate et le poivron sont infectés par le TDLCV, proche du PYMV ; le haricot est infecté par 2 geminivirus appelés BGMV-Jm1 et Jm2 appartenant au même cluster que le BGMV-PR. [A Trinidad](#), des geminivirus ont été identifiés sur environ 10 plants adventices sur 15 testés. Le PYMV infecte la tomate et des mauvaises herbes ; Sur d'autres plantes, le PHV et le PYMV sont présents en infection mixte.

- **Mécanismes de réplication des begomovirus**

Les études sur la réplication sont principalement effectuées par l'équipe de Raleigh, NC et le laboratoire du CNRS de Gif sur Yvette. Les rôles des gènes du composant A ( AL1, AL2, AL3 et AR1) ont été étudiés (L-7, 8, 13, 36, 39, 57) ainsi que les deux gènes présents sur le composant B : BR1 et BL1 (L62, 68, P41).

[AL1](#) : il code pour une protéine appelée Rep. Cette protéine intervient dans la réplication du virus selon un processus typiquement viral. Elle a une activité de clivage/ligation de l'ADN et une activité de nucléotidyl transférase. Elle est fabriquée dans le cytoplasme et passe dans le noyau pour assurer la réplication et la transcription : Elle forme des multimères qui se fixent sur l'origine de réplication et permet l'initiation de la synthèse du brin + d'ADN. Si la Rep est non fonctionnelle, sa fixation sur l'origine de réplication inhibe la réplication. La Rep joue un rôle dans la régulation des cellules de la plante hôte afin de créer un environnement favorable à la réplication du virus. Elle forme des oligomères et interagit avec la protéine AL3 sur la stimulation de l'ADN viral.

[AL2](#) : Il code pour une protéine appelée Transcriptional activator protein (TrAP) nécessaire au fonctionnement de la coat protéine et du gène de mouvement BR1. Le TrAP active le promoteur de la coat protéine (AR1) dans les cellules du mésophylle et le déréprime dans le phloème. Cette protéine de 15 kDa se fixe sur l'ADN simple brin ; Elle aurait un rôle dans la pathogénicité du virus.

[AL3](#) : Il code pour une protéine qui agit selon un processus typique de la plante hôte : elle stimule l'accumulation d'ADN viral . Elle forme des oligomères qui interagissent avec AL1 en N terminal . Elle fonctionne avec d'autre geminivirus.

[AR1](#) : code pour la coat protéine (CP) du virus ; la CP passe du cytoplasme dans le noyau pour l'assemblage du virus et ce sont les 70 premiers acides aminés de la CP qui sont impliqués dans ce transport.

[BR1](#) : est une protéine navette présente dans le noyau et au niveau des pores nucléaires ; elle permet le mouvement du virus du noyau vers le cytoplasme.

[BL1](#) : est présente dans le cytoplasme et est associée au réticulum endoplasmique. Elle permet le mouvement du virus entre cellules. Les deux protéines fonctionnent par accrochage sur l'ADN simple brin. Ensemble, elles assurent la régulation du mouvement de BR1.



## • Interaction moléculaire virus- plante

L'ADN viral est présent dans le noyau de la cellule hôte et sa réplication n'empêche pas celle de l'ADN chromosomal (L-9).

Les différentes protéines ont été localisées dans les cellules de la plante : la CP et la Rep sont surtout présentes dans les vaisseaux et méristèmes. BR1 et BL1 sont localisées surtout dans la feuille. (L-37). Le suivi de la CP du BDMV dans la plante a montré que la circulation du virus était la suivante (L-62): Le virus est présent dans les cellules 12 H après le début de l'infection puis on observe un mouvement de cellule à cellule (24-48h) ; le phloème est atteint au bout de 2j-4j puis le virus descend vers les racines (uniquement dans le phloème) et monte vers les vaisseaux de l'apex. Plus tard, la CP est détectée dans les tissus des fleurs, des fruits et des graines immatures, mais pas dans les fruits rouges et graines matures. Ce dernier point confirme la non transmission du virus par la graine. La sortie du virus vers les cellules du mésophylle dépend du stade de développement de la plante. Il existe deux types de mouvement des geminivirus dans la plante : un est CP dépendant et l'autre pas.

Des réactions hypersensibles ont été observées suite à l'infection de haricots par le BDMV: le composant B est impliqué (L-63) mais la CP n'est pas déterminante dans ce phénomène.

AL1, AL3 et AR1 n'interviennent pas dans l'adaptation à l'hôte ; par contre, AL2, BL1 et BR1 sont impliqués : le promoteur de BR1 répond différemment à la protéine AL2 de chaque virus (L64).

## • Détection des geminivirus

Les amorces MP16 /MP82 permettent l'amplification de la région intergénique et de l'extrémité N-terminale de la CP qui constitue la partie la plus variable du génome. Elles ont été définies pour différencier les begomovirus par la taille des fragments amplifiés et les profils de restriction enzymatique. En réalité, les résultats présentés (P-48) indiquent qu'un excès d'ADN de plante (plus de 800ng) dans les extraits inhibe l'amplification par ces amorces; de plus, les infections mixtes peuvent passer inaperçues si les virus sont en trop faible concentration dans les extraits (moins de 2 ng). Ces informations rendent difficile l'utilisation de ces amorces pour la mise en évidence des infections mixtes à partir d'extraction d'ADN totaux de plantes infectées.

## Relation *Bemisia*-Geminivirus

### • Interaction *sensu stricto*

La culture de cellule d'œufs de *Bemisia* permet d'étudier les interactions insecte-virus : une diminution de la croissance cellulaire des cellules infectées (ToMoV) a été constatée (L-29 équipe de Polston). Cependant ils n'ont pas pu mettre en évidence la réplication du virus dans les cultures de cellules. Cette technique de culture de cellules pourrait être utilisée à l'avenir pour l'étude des baculovirus (pour contrôler les WF). Ces résultats sont en accord avec le fait que le TYLCV se comporte comme un virus pathogène d'insecte ; la durée de vie diminue de 17 à 23% et la ponte de 40 à 50%. Il peut être transmis à la descendance pendant 2 générations, ce qui lui confère un rôle de réservoir du virus (L-30 équipe de Czosnek).

### • Transmission du TYLCV

Il est détecté dans la tête de l'insecte 5 minutes après la phase d'acquisition, puis dans le thorax 10 minutes après et 25 minutes plus tard dans l'abdomen. Après une phase de 48 h d'acquisition du virus par l'insecte, la quantité de CP décroît rapidement dans l'insecte alors que l'ADN viral reste présent durant toute la vie (L-30). La capacité à transmettre diminue avec l'âge mais ne disparaît pas. Outre la transmission du virus par l'oeuf, l'équipe de Czosnek a montré de manière indirecte une multiplication du virus dans l'insecte. En transformant des oeufs par bombardement ils obtiennent des larves puis des adultes virulifères (PCR + test de transmission). Ils ont montré aussi la potentialité de transmission par copulation (P-11). Les principaux résultats chiffrés sont :

Temps	femelles => mâles	mâles => femelles
4 heures	2/12	14/24
8 heures	9/17	4/13
24 heures	3/9	4/10

(ils suivent le virus et son état par PCR et vection / inoculation)

Si on met en présence 3 couples d'insectes virulifères avec 120 non virulifères (soit 2.5%) 8 jours plus tard on retrouve 12% de virulifères chez les mâles et 20% chez les femelles. Si l'on mélange 200 WF avec 6 couples virulifères sur des plantes des plantes non hôtes du TYLCV et qu'on les passe ensuite par 3 sur tomate on attend 12/58 plants infectés et on obtient 22/58.

En Egypte le TYLCV est transmis par *Bemisia* mais aussi par *Trialeurodes ricini* (Misra) (P-14).

10%	des tomates sont infectées après	30 min d'acquisition
60%		1 heure
90%		2 heures
20% des adultes acquiert le TYLCV après		7 heures sur tomates infectées par le TYLCV
50%		10 heures

- **Relation Biotype/transmission des geminivirus (L-31)**

Markham souligne la différence entre les groupes de geminivirus : pour les mastrevirus, par exemple, il y a spécificité d'une espèce d'insecte (cicadelle) avec un virus. Les biotypes monophages sont aussi associés à des virus moyennement agressifs. Dans les expérimentations outre l'effet de la lumière et de la température, l'effet manipulateur est fort .... Ces préalables présentés, il rappelle qu'il y a plus de différence entre des insectes de biotype B que globalement entre les biotypes B et non B. Cependant on sait quand même (!) que le biotype B transmet avec une efficacité différente les différents begomovirus. Par contre les biotypes B et Q en Espagne ont la même capacité à transmettre le TYLCV. Au contraire au Pakistan le TLCV est mieux transmis par le biotype local que par le biotype B.

Ceci est à mettre en relation avec une des informations de L-88 : sur cucurbitacées, et melon en particulier, le lettuce infectious yellow virus (LIYV, closterovirus) est transmis par le biotype A (en Californie). Depuis la supplantation par le biotype B le LIYV ne sévit plus mais est apparu un nouveau closterovirus : le lettuce chlorosis virus (LCV) ... encore plus sévère que le LIYV.

## **Résistance des plantes à *Bemisia tabaci/argentifolii* et aux geminivirus**

- **Tomate / Bemisia**

Un exposé de Mutschler M.A. de Cornell (L-52) très intéressant : Il existe dans *L. pennelli* des 'acylsugars' (qui représentent 90% des exsudats des trichomes de types IV) qui ont un rôle repoussant envers de nombreux insectes (*Bemisia*, mais aussi, différentes chenilles et mineuses) aussi bien au niveau de la prise alimentaire que de l'oviposition. Ces 'acylsugars' ne sont pas toxiques pour l'homme. Il y a deux programmes de transfert de ce caractère un programme pour la tomate de frais (en BC5) et un programme pour la tomate d'industrie, moins avancée. En fait 5 QTL (aucun sur le chromosome 6) ont été identifiées pour ce caractère et le suivi dans les Back-Cross se fait par les marqueurs moléculaires. Ils restent à éliminer des caractères défavorables - taille du fruit en particulier). Tous les tests jusqu'à maintenant ont été fait en laboratoire. Les lignées seront prochainement testées en Floride (Scott ?) pour vérifier l'efficacité de cette résistance sur l'incidence des geminivirus. Mutschler nous a confirmé avoir montré ces variétés à des agriculteurs que 'l'aspect poilu et collant' n'a pas rebuté.

Un Poster P-5 met en relation la densité de trichomes et les densités d'insectes observés sur *L. chilense*. A relier avec le travail du sélectionneur de Trinidad. (voir contact).

NB : 1 exposé montre que *B. argentifolii* déclenche des irrégularités de maturation des fruits (L-53)

- **Tomate/geminivirus**

- Sélection classique : seul des résultats sur le TYLCV ont été présentés

Une équipe espagnole (P-43) a présenté un screening de nombreuses accessions de tomates sauvages. Deux paramètres sont présentés : le % de plantes infectées et la sévérité des symptômes (0-4).

Accessions	n°	%	Sévérité	Accessions	n°	%	Sévérité
<i>L. esculentum</i>	ECU 462	100	3.25	<i>L. hirsutum</i>	ECU 433	70	1.5
<i>L. cerasiforme</i>	ECU 460	80	3		ECU 436	50	1.5
	ECU 467	100	2.5		ECU 336	40	1
	ECU 464	50	2		ECU 294	70	1.5
<i>L. pimpinellifolium</i>	ECU 3544	80	1.5		ECU 348	70	2.5
	ECU 417	100	1.5		ECU 342	100	2
	ECU 421	100	0.5	<i>L. peruvianum</i>	ECU 446	50	1
	ECU 424	90	2.5		ECU 301	40	0.5
	ECU 425	100	2.5				
	ECU 443	100	2				
	ECU 412	100	2.5				

Des lignées ont été testées au Liban pour leur résistance au TYLCV (P-32) Le tri a été conduit pendant 3 ans sur des plantules de 1 mois infestées par des insectes virulifères puis pendant deux ans au champ. L'accumulation du virus est suivi par Tissue Blot Immuonoassay et par Nucleic Acid Tissue Blot Hybridation (NATBH). Pour cette dernière technique l'accumulation est évaluée de 0 (pas de réaction) à 3 (forte réaction).

Géotypes	Symptômes (0-4)	NATBH 28 J	NATBH 35 J
Tyking	0.1	0.5	0.5
Fiona	0.12	0.67	0.83
CLX 3752	1.25	0.33	0.33
RS 8990	1.53	1.55	2.23
S&G 143	1.7	1.17	1
CLX 3727	1.65	2	2.33
S & G 156	2.67	2.5	2.33
DRW 3097	1.53	0.67	0.67
DRD 8001	1.47	0.67	0.5
TY - 20	1.19	0.5	0.5
Karima	4	2	2.67
Speedy	4	2.83	2.67
TY Carla	1.65	0.33	0.5

La concentration en virus n'est pas toujours reliée à l'intensité des symptômes

Un poster et 1 exposé, tous deux israéliens montrent que dans ce pays où l'on travaille sur le TYLC depuis plus de 20 ans, le travail de sélection de la tomate est très très en avance par rapport aux travaux sur les autres geminivirus.

Lapidot L-54 : le 1er cv résistant au TYLCV, TY2O, a une résistance qui vient de *L. peruvianum*, il présente une apparition différée des symptômes. Par la suite ce sont des résistances issues de *L. chilense* qui ont été utilisées, avec 1 QTL cartographié sur le chromosome 6. Une tolérance a aussi été cartographiée sur le chromosome 6 à un autre locus, elle provient de *L. pimpinellifolium*. Récemment cette équipe a travaillé sur une nouvelle source de résistance pour laquelle aucun symptômes n'est observé. Elle est issue d'une série d'intercroisement entre 4 accessions de *L. peruvianum*. Pour estimer l'influence sur le rendement de cette résistance, ils comparent pour une même lignée des plantes non infestées et des plantes infestées à un stade précoce. Les résultats sont exprimés en % par rapport au témoin sain (l'infestation est très lourde).

Géotypes	Rendement/Cv sain	Symptômes
TY 172	80 %	0
TY 197	80%	0
8484	40%	Few
3761	30%	Few - Overcome
Fiona	50 %	Mild symptom
Tyking	Variation dans la ligne	

Il y a moins d'accumulation de virus (test sur les feuilles du haut d'un rameau) dans les lignées sans symptôme que dans les autres. Trois gènes seraient impliqués avec une dominance partielle.

Czonek, dans un poster non répertorié dans les résumés, présente deux lignées issues de retrocroisements *L. esculentum* sur *L. hirsutum* : 902 dans laquelle le virus (TYLCV) reste indécélable et 908 dans laquelle on peut détecter du virus. Ces deux lignées produisent des fruits bien rouges de 80 à 120 g. La résistance a été

testée en Inde, Israël, Jamaïque et Taiwan. Un gène majeur et 1 gène mineur seraient en cause, semi-dominants. Les auteurs soulignent que sur ces lignées il n'est pas nécessaire d'utiliser des insecticides contre *Bemisia* ce qui n'est pas le cas pour les lignées de Lapidot.

A signaler un essai sur l'effet du porte greffe pour la résistance au TYLCV (P-50). Un porte-greffe résistant n'inhibe pas la dissémination dans le scion sensible. Un porte greffe susceptible ne décroît pas la résistance d'un scion tolérant.

- Transgénèse

Deux utilisations de la transformation émergent. L'une majoritaire utilise la plante comme un modèle biologique pour étudier le rôle des divers promoteurs viraux et pour analyser la fonction de produits viraux non identifiés. L'autre concerne les plantes transgéniques pour la résistance aux geminivirus (L-55).

Résistance - Protéine de capsid

Les stratégies pour la résistance, utilisées jusqu'à présent et notamment la protection par la protéine de capsid (CP), n'ont conférées que des degrés variables de résistance aux geminivirus. Toutefois des tabacs transformés par un vecteur contenant le gène de la CP du Tomato mottle virus (ToMoV) développent une résistance (pas de symptôme et pas de réplication virale) qui semble basée sur l'action du transcript et non du produit (P-69).

Résistance - réplication virale

Les nouvelles orientations s'intéressent au contrôle de l'expression des gènes en vue d'induire une perturbation de la réplication du génome viral. L'utilisation d'ADNs viraux défectueux (Defective interfering DNA) a pour effet de diminuer significativement la prolifération virale de l'ACMV (African cassava mosaic virus) (L-55) en amplifiant le taux de réplicon extrachromosomal. La réplicase produite dans le cytoplasme est utilisée pour ces ADN au détriment de la réplication du virus principal dans le noyau.

La résistance au Bean golden mosaic virus (BGMV) sur tabac s'appuie sur la perturbation des interactions Rep protéine - origine de réplication (*ori*) (L-57) ou sur la transcription d'ARN antisens correspondants aux gènes AC1, AC2, AC3 et BC1 (L-58). L'approche ARN - antisens reste la plus développée. Les tabacs exprimant un ARN antisens de la protéine Rep du Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) (P-33) présentent soit une diminution du développement des symptômes soit une réduction de l'accumulation des virions.

Différents niveaux de résistance au ToMoV ont été obtenus en transformant des lignées de tomates (Fla 7324, Fla7613 et VF6) génération T1 avec le gène *Rep* sens (P-61). Ces résistances ont été évaluées pour ces plants en champ sur les générations T2-T3-T4. En génération T3, on observe moins de 5% de plants infestés (avec traitement contre *Bemisia* ...) pour 40% de plants infestés pour les non transgéniques. Sous infestation naturelle exposé au *Bemisia* (pas d'insecticides) seules deux lignées ont un rendement supérieur à Agriset (43 à 46 kg commercialisable/ha contre 26 pour Agriset)

Enfin l'expression de la protéine défectueuse de mouvement BC1, a été l'autre voie évaluée pour la résistance au ToMoV et au Cabbage leaf curl virus (CabLCV) (L-56). Une délétion majeure en C-terminal de 119 acides aminés est réalisée. La transformation des plants a induit une recombinaison non identifiée ajoutant 26 acides aminés à la délétion. Ces deux mutations couplées confèrent une résistance sur le tabac aux deux virus.

- Melon/*Bemisia*

Un seul exposé sur le sujet de Simmons (L-60). Il montre que *B. argentifolii* entraîne des baisses de longueur et de poids des racines des tiges et des feuilles de 50 à 80 %. Les autres paramètres utilisés ont été l'état général de la plante et le nombre d'immature par cm<sup>2</sup>. En laboratoire a été étudié le % de survie de l'oeuf à l'adulte. Sur ces paramètres nous avons noté quelques génotypes : PI 125861, PI 125918, 27758, 27796, 34333, PI 126165, 33182, 27759 qui semblent intéressants. De cet exposé assez peu précis, il ressort que l'antibiose est un paramètre difficile à mesurer, que cette équipe recherche plus les effets d'antixénose (de part l'importance des infestations) et qu'aucune résistance totale n'a été identifiée à ce jour

## 2. CONTACTS PRIS

---



## Bemisia

---

Frank BYRNE (Univ. California, Dept Entomology, Riversides, USA)

Spécialiste de la biologie des aleurodes. A caractérisé différents biotypes par électrophorèse. Fournira ses protocoles détaillés.

Matthew CAHILL (IACR - Rothamsted, Harpenden, UK)

Collabore avec F. Byrne. Travaille principalement sur les problèmes de résistance des aleurodes aux insecticides. Dispose de 7 biotypes en élevage dans son laboratoire : biotype A, biotype B, biotype du Pakistan, d'Espagne, etc... Accepte de nous envoyer des insectes qui pourraient nous servir de témoins de références pour nos électrophorèses.

Hong LEI (Dept Animal Ecology, Lund Univ., Suède)

Chercheur chinois travaillant provisoirement en Suède. Auparavant, il a travaillé chez F. Tjallingii (Wageningen, spécialiste de l'EPG) sur la caractérisation de la résistance de la tomate à *Trialeurodes vaporariorum* par EPG. Est l'un des rares à avoir appliqué cette technique aux aleurodes. Seule autre équipe connue aux USA, Walker *et al.*, chez qui d'ailleurs, H. Lei ira travailler dès Novembre pour 3 ans (thème : mécanismes de la résistance de la luzerne aux aleurodes). Accepte de nous apporter des informations concernant les EPG sur aleurodes.

C.A. SERRA (Ecotopia SA, Samana, République Dominicaine)

Collabore avec G.A. Evans (Univ. Florida, spécialiste des *Encarsia*). A effectué un travail assez exhaustif sur les parasitoïdes inféodés aux aleurodes en République Dominicaine. Accepte l'échange d'informations pour nous aider à décrire nos parasitoïdes. Possibilités de faire déterminer gratuitement et rapidement les *Encarsia* et autres parasitoïdes par Evans (University of Florida).

J. DUPUY (République Dominicaine)

Discussions à propos du neem (plantes insecticide). Il va nous envoyer des graines de neem (avec le mode de préparation), une préparation (huile de neem) et un produit commercial (Azatin) pour nos tests contre *Diaphania hyalinata*.

## Résistance

---

H. CZOSNEK (Université de Jérusalem)

Equipe israélienne travaillant depuis de très nombreuses années sur la résistance au TYLCV (à collaboré avec H. Laterrot). Pas de problème pour tester ses variétés hautement résistantes au TYLCV. Il suffit d'envoyer un mail. Mais il souhaite connaître les résultats des tests en retour. Ces variétés n'ont pas encore été confrontées à d'autres geminivirus.

M. LAPIDOT (Vocani Center, Israël)

Sélectionneur tomate. Théoriquement pas de problème pour tester ces variétés résistantes au TYLCV à partir du moment où on ne les utilise que pour de la recherche (il faudra signer !). Comme génotype de départ pour un programme de sélection, il faudra payer, cher apparemment...

P. UMAHARAN (UWI, Trinidad)

Ce chercheur est avant tout un sélectionneur qui a dérivé vers la pathologie, principalement la virologie. Il travaille différentes espèces végétales et est cependant très intéressé par le problème geminivirus.

Bonne discussion sur la résistance de la tomate au PYMV : à Trinidad, l'hybride F1 Tyking se comporte mieux que les populations de Laterrot. Il travaille actuellement sur du matériel de Scott en Floride (sélection tomate, résistance au ToMoV). Ce matériel dérive d'un croisement *L. esculentum* X *L. chilense*. Après deux BC, quelques plantes étaient immunes au ToMoV. Parmi celles-ci une lignée complètement immune au PYMV (Test au champ et agroinoculation). Les points faibles de son programme : pas d'entomologiste, pas d'élevage, donc pas d'inoculation par *Bemisia* virulifères possibles, le biotype/espèce de *Bemisia* n'a pas été identifié à Trinidad.

A. SIMMONS (USDA, Charleston)

Entomologiste qui travaille avec Mc Creight (sélectionneur melon, Californie). Bonne discussion sur les modes d'évaluation des résistances du melon à *Bemisia*. Rendez vous pris pour la Californie (Colloque Cucurbitacées en décembre 1998)

## Virologie

---

### → Aspect mécanismes virologiques + transformation

*James DALE (QUT Brisbane - Australie)*

Spécialiste des mécanismes viraux dans une optique de résistance par la transformation - Etude sur le nanovirus du Bunchy top des bananiers - compétences sur la résistance aux virus des bananiers.

La discussion a porté sur la transformation ayant trait au gène de la réplicase (expression ou produit muté) et de son importance pour les nanovirus et les geminivirus.

*Bruno GRONENBORN (CNRS Gif-sur-Yvette - France)*

Référence française pour l'étude des mécanismes moléculaires des geminivirus et plus particulièrement du TYLCV. Etudie également les aspects de résistance en utilisant la stratégie réplicase pour les nanovirus (Faba Bean Necrotic Yellows virus) pour la résistance.

Discussion intéressée pour connaître les structures de recherches et compétences du CIRAD en bananier, transformation et le virus du Bunchy top.

### → Taxonomie

*Claude FAUQUET (ILTAB/TSRI-ORSTOM La Jolla - Californie)*

Virologue spécialiste de l'African cassava virus et fervent acteur dans la taxonomie virale.

Précisions sur la nouvelle classification des geminivirus et sur l'utilisation des amorces échangées issues de son laboratoire.

### → Geminivirus dans les plantes adventices

*Bryan HARRISON (Scottish Crop Research Institute Dundee - Ecosse)*

Virologue senior renommé pour ses travaux en épidémiologie des geminivirus (Denis Fargette/ORSTOM et M. Thresh/NRI) et sur le Cotton leaf curl virus.

Discussion sur le rôle des adventices comme réservoirs à geminivirus et lieu d'émergence de nouveau virus recombinés.

### → Détection / Méthodologie/Taxonomie/ Epidémiologie

*Wayne McLAUGHLIN (University of West Indies Jamaïque)*

*Marcia ROYE (University of West Indies Jamaïque)*

Discussion intéressante de l'état geminivirus de la Jamaïque et des structures de travail

*Pathmanathan UMAHARAN (University of West Indies Trinidad and Tobago)*

Généticien virologue ayant réalisé chez C. Fauquet ses premiers travaux de caractérisation des geminivirus présents à Trinidad.

Discussions très enrichissantes sur le sujet tant en détails de manipulations, en structures et équipe qu'en hypothèses de résistance ou de recombinaisons.

*Jesus MENDEZ-LOZANO (ILTAB La Jolla - Californie)*

Notre contact de laboratoire au travers de C. Fauquet.

Discussions techniques

*Enrique MORIONES (CSIC Malaga - Espagne)*

Equipe travaillant sur le TYLCV en Espagne

Bonne utilisation de la technique SSCP permettant la mise en évidence de molécules différentes sans passer automatiquement par un clonage et séquençage. Echange de détails technique et protocoles.

*Michel PETERSCHMITT (CIRAD-AMIS Montpellier - France)*

Spécialiste français du Maize streak geminivirus.

Discussion autour des travaux réalisés à l'île de la Réunion avec B. Reynaud sur le TYLCV nouvellement introduit et de l'évolution de la collaboration potentielle et déjà mise en place.

*Jane POLSTON (University of Florida Bradenton - Floride)*

Spécialiste du ToMoV en Floride et des geminivirus en zone Caraïbe. A identifié la première le PYMV de Guadeloupe et de Martinique.

Discussions attentives sur les derniers résultats obtenus et pour définir les nouvelles possibilités de collaboration.

*Pilar RAMIREZ (CIBCM Université du Costa Rica San Juan - Costa Rica)*

Virologue moléculaire de l'université faisant parti de l'ancienne équipe de Gabriel MACAYA (président de l'Université) Travaille tous les virus économiquement importants de la zone d'un point de vue étiologique, détection et épidémiologique.

Discussion sur le tomato yellow mosaic virus ToYMV et les autres geminivirus du Costa Rica en termes de détection et caractérisation.

Programme de travail du poste post doctoral commun sur le BSV bananier.

*Rodrigo VALVERDE (Louisiana State University Baton Rouge - Louisiane)*

Discussions sur les Virus de la patate douce

*Gail VISLER ( USDA, ARS Salinas Californie)*

Discussion sur les closterovirus transmis par Bemisia, symptômes importance etc...

Echange d'informations et de publications. Proposition d'envoi d'échantillons pour analyse.

### **3. PERSPECTIVES DE COLLABORATIONS**

---

## Réseau Caraïbes

---

### → Projet CGIAR

Intégration dans le projet SP-IPM (L 105) géré par *P. Anderson* et *F. Morales* qui prend fin en décembre 1998

*Définir une activité en Guadeloupe s'étendant éventuellement aux autres petites îles, à court terme pouvant prendre la forme de formation à des méthodes ou participation à l'accumulations de données scientifiques dans la zones des petites îles :*

*Pamela Anderson (CIAT, Cali, Colombie)*

Responsable d'un projet IPM Amérique du Sud - Caraïbes (CGIAR). Organise et dispose de fonds pour un inventaire en réseau dans la Caraïbe et l'Amérique du Sud, pour caractériser les biotypes de *Bemisia* présents.

*Francisco José MORALES*

CIAT Cali - Colombie. Dans ce même programme responsable de la zone Caraïbe

Il propose différentes formules :

- suivre une formation au CIAT pour la caractérisation par PCR
- se faire envoyer les amorces et faire la PCR "localement"
- envoyer nos échantillons dans l'alcool au CIAT.

C'est la première solution que nous souhaitons mettre en place.

*Gina Banks (John Ines Centre, UK)*

Possibilités d'envoyer des échantillons de *Bemisia* pour une caractérisation en RAPD-PCR. Possibilités aussi d'avoir des insectes références de souche B. Serait probablement encore plus intéressée si on trouvait un biotype local. Elle travaille en fait dans le projet de *Pamela Andersson* (CGIAR -CIAT).

## Virologie

---

- Avec les scientifiques de l'Université des West Indies (Trinidad)
  - ♦ Pour échanger des informations sur les techniques développées ou les outils utilisés,
  - ♦ Possibilité de mise en place d'un projet (financement FIC?) : inventaire des geminivirus sur les cultures maraîchères et sur les adventices dans la Caraïbe.

Une mission est déjà programmée avant fin juin 1998.

- Avec les scientifiques de l'ILTAB continue d'être limitée pour le moment à des échanges techniques.
- Avec *Jane POLSTON*
  - ♦ Collaboration Effective devant donner lieu à publications communes
    - envoi des séquences A + B du PYMV cloné par Jane POLSTON
    - envoi du fragment A' cloné monopartite pour répartition au niveau de la Guadeloupe et dans les adventices
  - ♦ Discussions et forum scientifiques : aide à la mise en place d'essai, à la rédaction de publication etc...

## Epidémiologie du virus et dynamique des populations de l'insecte

---

*Jonhson Holt (NRI, Angleterre)*

A développé un modèle d'épidémiologie du TLCV au Pakistan. De nombreux paramètres interviennent dans ce modèle, paramètres que nous maîtrisons en partie (dynamique de l'insecte) ou que nous pouvons maîtriser (% d'insectes virulifères...). Essayer de développer la collaboration avec le NRI pour la modélisation en épidémiologie du PYMV et aussi pour le traitement des données de dynamique des populations de *Bemisia*. A partir de ce modèle, la variation des paramètres permettra d'étudier des situations nouvelles (ex. plantes résistantes). J. Holt se propose de rédiger un projet en fonction d'informations plus précises que nous devons lui fournir sur notre programme afin de mettre en place un sujet pour un PhD.

## Résistance

---

Pas de réelle collaboration envisagée pour l'instant. Les contacts se limitent à des échanges de matériel.



#### **4. ABSTRACTS PRESENTES AU CONGRES - POSTERS**

---

## IS THE *Mi* GENE EFFICIENT FOR RESISTANCE AGAINST *BEMISIA ARGENTIFOLII*?

C. Pavis<sup>1</sup>, C. Urbino<sup>2</sup>, N. Boissot<sup>1</sup>, N. Sauvion<sup>1</sup>, M.-L. Caruana<sup>3</sup> and G. Ano<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>INRA, Unité de Recherches en Productions Végétales, BP 515, F-97165 Pointe-à-Pitre Cedex, Guadeloupe (French West Indies).

<sup>2</sup>FDGDEC, Jardin d'Essais, BP 458, F-97139 les Abymes, Guadeloupe (French West Indies),

<sup>3</sup>CIRAD-FLHOR, INRA BP 515, F-97165 Pointe-à-Pitre Cedex, Guadeloupe (French West Indies)

Kaloshian *et al.* (1995, 1997) have shown that an aphid resistance gene, called *Meu1*, is tightly linked to the nematode resistance gene *Mi*, or is possibly the same. Both the aphid *Macrosiphum euphorbiae* and the nematode *Meloidogyne incognita* are feeding in the phloem of tomato. As the whitefly *Bemisia argentifolii* is piercing-sucking as aphids, we tried to determine whether the *Mi* introgression induced silverleaf whitefly resistance and/or resistance to the Guadeloupe geminivirus (close to PYMV) transmission to tomato.

In field trials under natural whitefly infestation and bioassays under controlled conditions, we studied resistance to the insect and to the disease. Three couples of nearly isogenic lines (NILs) were used, differing by the presence of the *Mi* gene : Caraïbo/Carmido, Mobox/Motelle and Roma Vf/Rossol, respectively [Mi+] and [Mi]. During the field trial, the number of adults, eggs and larvae on the foliage were checked every week over a period of 2 months; during this period, the mean daily temperatures varied from 24.9 to 28.9°C, with 22.2°C as a minimum and 32.9 as a maximum. The geminivirus symptoms were recorded and ELISA tests were carried out for the geminivirus detection in asymptomatic plants. The bioassays were conducted only with the genotypes Mobox and Motelle (T=27±2°C, HR=80±10%, daylength=12h). Fifty *B. argentifolii* adults were allowed to lay eggs on the two eldest leaves of 5.5 weeks-old tomato plants. One hundred eggs were kept on each plant and the following parameters were monitored: living larvae 16 days after infestation (AI), duration of the life cycle and total number of adults emerged 30 days AI.

Under controlled conditions no significant differences could be observed regardless genotype. For Mobox and Motelle respectively, the following means were calculated: living larvae 16 days AI: 74 and 82; duration of the life cycle: 20.8 and 19.8 days; total emerged adults: 68 and 73. This indicates the absence of antibiosis caused by *Mi* under our experimental conditions.

In the field, the NILs exhibited the same number of adults and eggs, which suspect that *Mi* did not elicit antixenosis to *B. argentifolii*. However, the NIL Mobox/Motelle differed significantly from the two other NILs, considering the number of adults and larvae. This may indicate a partial resistance of these genotypes to *B. argentifolii*.

In addition, all genotypes expressed the same incidence and severity of damage, and the same infection kinetics; consequently, *Mi* gene should not be determinant for geminivirus transmission resistance. ELISA tests highlighted that the first symptom of geminivirus disease consisted in the mosaic, and that leaf-curl is a secondary symptom.

As a conclusion, it can be stated that despite similar feeding habits, *B. argentifolii* is not affected by the presence of the *Mi* gene in our conditions, as compared to the aphid *M. euphorbiae*, neither for its development, nor for the geminivirus transmission.

## A SURVEY OF THE GEMINIVIRUS DISEASE IN GUADELOUPE IN RELATION WITH THE PRESENCE OF *BEMISIA ARGENTIFOLII*.

Cica Urbino<sup>1</sup>, Marie-line Caruana<sup>2</sup>, Anne-lise G  rion<sup>3</sup>, Nicolas Sauvion<sup>3</sup>, Albert Huc<sup>3</sup>.

1. FDGDEC Unité de Recherches en Productions Végétale BP 515 F-97165 Pointe-a-Pitre Cedex France (Guadeloupe, French West Indies)

2. CIRAD-FLHOR. Unité de Recherches en Productions Végétale BP 515 F-97165 Pointe-a-Pitre Cedex France (Guadeloupe, French West Indies)

3. INRA Unité de Recherches en Productions Végétale BP 515 F-97165 Pointe-a-Pitre Cedex France (Guadeloupe, French West Indies)

The first report of a geminivirus-induced disease in tomato *Lycopersicon esculentum* Mill. occurred in 1989 in Guadeloupe as a chlorosis infection. Then, the disease spread overall the island up to 1993 where it is now endemic. At the same time, *Bemisia argentifolii* was identified and important pullulations were recorded. A survey, combining the incidence of the disease and the presence of the whiteflies was conducted in order to evaluate their real impacts in 1996-97. A number of 44 farms was visited for the virological aspects and more than 400 plots for the whiteflies distribution. They were located in Grande-Terre, North of Basse-Terre and leeward coast of Basse Terre. The identification of the virus infection was made by symptom observation and by ELISA tests and the characterization of *B. argentifolii* by isoenzymes (esterase) and biotest (silverleaf symptom induction).

Everywhere in Guadeloupe, the tomato plants expressed similar symptoms of mosaic, leaf distortion, leaf rolling and sometimes severe stunting. The rate of contamination fluctuated from 50-100% to 10-30% in relation with surrounding conditions. Ninety three samples were collected in different areas and tested against geminivirus, cucumber mosaic virus (CMV), potato X virus (PVX), Potato Y virus (PVY), tobacco etch virus (TEV), tobacco mosaic virus (TMV) and tomato spotted wilt virus (TSWV). Five reacted positive for CMV, 6 for PVY and all for geminivirus. It could be a strain of potato yellow mosaic virus (PYMV) that Polston *et al.*, 1998 had recently identified in Guadeloupe, Martinique and Puerto Rico. Field samples were selected and maintained by grafting to tomato in order to conduct a biological and molecular characterization of the virus.

At the same time, the studies on the species identification and dynamic of the populations of *Bemisia* were carried on tomato and cucurbit. The characterization of the collected whiteflies confirmed the presence of *Bemisia argentifolii* everywhere in the island.

A correlation between the spread of the disease and the presence of *Bemisia argentifolii* was analysed.

### R  f  rences

Polston J. E., D. Dubois, G. Ano, F. Poliakoff and C. Urbino. Plant Disease 1998, vol. 82 n  1, pp 126.

## Molecular and biological characterization of three isolates of geminivirus infecting tomato in Guadeloupe.

Cica URBINO<sup>1</sup>, Anne-Lise GERION<sup>2</sup>, and Marie-Line CARUANA<sup>3</sup>

1. FDGDEC Unité de Recherches en Productions Végétale BP 515 F-97165 Pointe-a-Pitre Cedex France (Guadeloupe, French West Indies)
2. INRA Unité de Recherches en Productions Végétale BP 515 F-97165 Pointe-a-Pitre Cedex France (Guadeloupe, French West Indies)
3. CIRAD-FLHOR. Unité de Recherches en Productions Végétale BP 515 F-97165 Pointe-a-Pitre Cedex France (Guadeloupe, French West Indies)

Since 1989, tomato fields in Guadeloupe have been infested by a geminivirus disease. Symptoms are yellow mosaic, chlorotic mottling, leaf rolling and stunting. A survey showed that the disease was present overall the island. Cloning and sequencing of an isolate lead to the identification of a bipartite geminivirus close to potato yellow mosaic virus (PYMV-G) (Polston et al., 1998). In this study, three other virus isolates were collected from tomato in Grande-Terre and on the leeward coast of Basse-Terre and from whiteflies (*Bemisia argentifolii*) in Grande-Terre. They were characterized biologically (mechanical and vector transmission, host range) and molecularly. PCR primers based on conserved sequences were used to amplify and sequence the intergenic region and the N-terminal region of the coat protein gene (CP). Sequence comparisons between these isolates and the clone of PYMV-G were established in order to confirm the occurrence of PYMV in Guadeloupe.

### References

Polston J. E., D. Dubois, G. Ano, F. Poliakoff and C. Urbino. Plant Disease 1998, vol. 82 n°1, pp. 126.